

◎公表特許公報(A)

平5-507878

◎公表 平成5年(1993)11月11日

◎Int.Cl.⁴ B 01 L 3/00
G 01 N 33/543
35/02

◎出願番号 特願1991-061721
R
Z

◎発明の名称 組込みアブセイアセンブリおよび装置

◎特 願 平2-511515
◎出 願 平3(1991)6月13日

◎審査請求 未請求
予備審査請求 有

◎公 報 平4(1992)12月14日
◎特 許 出 願 PCT/US91/04207
◎国際公開番号 WO91/19527
◎国際公開日 平3(1991)12月26日

(全 13 頁)

◎発明の名称 組込みアブセイアセンブリおよび装置

◎特 願 平2-511515

◎出 願 平3(1991)6月13日

◎翻訳文提出日 平4(1992)12月14日

◎特 許 出 願 PCT/US91/04207

◎国際公開番号 WO91/19527

◎国際公開日 平3(1991)12月26日

優先権主張 ◎1990年6月15日◎米国(U.S.)◎538,002

◎発 明 者 スメサーズ、リフチ、デイ アメリカ合衆国 カリフォルニア州 95025 ミルピタス、ボウル
ダー ストリート 360

◎出 願 人 カイロン コーポレイション アメリカ合衆国 カリフォルニア州 94806 エメリービル、ホー
トン ストリート 4580

◎代 理 人 弁理士 舟橋 勉子

◎指 定 国 AT, AT(広域特許), AU, BB, BE(広域特許), BF(広域特許), BG, BJ(広域特許), BR, CA, CF
(広域特許), CG(広域特許), CH, CH(広域特許), CI(広域特許), CM(広域特許), DE, DE(広域特
許), DK, DK(広域特許), ES, ES(広域特許), FI, FR(広域特許), GA(広域特許), GB, GB(広域特
許), GN(広域特許), GR(広域特許), HU, IT(広域特許), JP, KP, KR, LK, LU, LU(広域特
許), MC, MC(広域特許), ML(広域特許), MR(広域特許), MW, NL, NL(広域特許), NO, RO, SD, SE, SE
(広域特許), SN(広域特許), SU, TD(広域特許), TC(広域特許)

最終頁に続く

請求の範囲

1. 固体支持体を含む、核反応装置を保護して反応物質を保持するための装置を構成する反応プレート、

第1と第2の反応物質を含む移動プレート、

前記第1と第2の反応物質を含む、核反応装置に結合するための必要第1と第2の反応物質、

材料を前記装置に添加するための材料供給装置、前記1の反応物質を前記装置に供給するための第1の材料供給装置、前記2の反応物質を前記装置に供給するための第2の材料供給装置、および前記第1の反応物質を前記装置に供給するための第2の材料供給装置への移動のための反応プレート上に移動プレートを取付ける装置、および

前記した材料供給装置を前記装置と接続させるまで、これらの反応物質から第1のおよび第2の試験物を抽出しないように防止するための装置、

から成る、核反応装置への使用可能な分析物移動装置を含む、分析物移動装置を保持するための組込みアセンブリ、

2. 前記装置の少なくとも一方が液体溶液の形であり、該溶液を含む容器は核反応装置が移動プレート内に形成されたチャンネルを含む、前記停止装置は核反応装置の端部と反応プレートとの移動を許す装置との間の密封シールを含む、請求項1記載のアセンブリ、

3. 前記装置はシールが移動プレート内のチャンネルに保持された弾性スリーブによって形成され、移動プレートと反応プレートとの接触を許す平面が該スリーブの端部に形成され、チャンネルの開口部を形成し、前記装置によって核反応装置から液体からの物質が漏出しないようにする請求項1記載のアセンブリ、

4. さらに前記反応プレートに提供される、そのような移動装置において、前記装置と接続する出入口を有するカバープレートを含

み、前記スリーブが移動プレートと反応プレートおよびカバープレートの両方との間でシールを形成するためには有効である、請求項1記載のアセンブリ、

5. 移動プレートが移動プレート内の前記装置と反応プレートとの端部とを連絡する密封した開口部を含む、請求項1記載のアセンブリ、

6. 前記装置は放射状に延在するチャンネル内にあり、前記移動プレートは、放射方向において、チャンネルに沿って隙間をあけた周方向の開口部を有し、前記装置は前記開口部と開口部の異なる一方と連絡するように放射状に分かれている、請求項1記載のアセンブリ、

7. 前記装置の核反応装置を加熱するための加熱ヒーターを使用するため、さらに前記ヒーターを保護する際に前記装置をシールするためのシール装置を含む、請求項1記載のアセンブリ、

8. さらに前記反応プレートに取付けたカバープレートを含み、前記シール装置が(a)該プレートの横平面に正確な方向で移動するための前記移動プレート内に形成されたシールパッド、および(b)移動プレートを加熱装置に動かすとき、前記装置に対して該パッドを一方に移動させるための前記カバープレート上の装置を含む、請求項1記載のアセンブリ、

9. 少なくとも1個の前記装置がプレート状の反応装置を含み、その反応装置を反応装置と接続させるべき反応プレート状の装置を保持した前記装置から重力によって前記装置に抽出する、請求項1記載のアセンブリ、

10. 反応装置プレート内の前記反応装置を固定アッセイ支持体を含む細長いチャンネルによって形成し、移動プレートを液体位置に動かすとき、前記移動プレートがチャンネル内の両端のあいだで

成と検出できる出入口を定め、該チャネルを導管が通過するための開通された通路を形成する。請求項1記載のアセンブリ。

(1)、該反応プレートと移動プレートを一方向他方向に対して回転させるために駆付け、請求項1記載のアセンブリ。

(2)、該反応プレートの開口部を用いて検出を促進するための反応プローブアッセイに使用するため、該反応における該検出支持体を固定化した検出プログラムメントでコーティングして、前記アセンブリは(1)の該検出の開口部と固定化された反応プログラムの両方をハイブリッド形成するためには有効なプローブ、および(3)前記アセンブリに対して、直接または間接的に、結合するために有効なレポーター分子を反応チャネルに連続供給するための試薬貯蔵器を含む。請求項1記載のアセンブリ。

(3)、該アセンブリを駆動するための試薬貯蔵器が該検出中に該プローブを含む(1)の貯蔵器および試薬供給通路を有する第1の貯蔵器に接続するためのチューブと該通路を含む第2の貯蔵器を含む。請求項1記載のアセンブリ。

(4)、該レポーター分子を供給するための試薬貯蔵器が該反応混合物分子に直接または間接的に結合するために有効な分枝体積プログラムメントを有する(1)の貯蔵器、および該分枝プログラムメントに結合するために有効なリポーター標識分子を含む第3の貯蔵器を含む。請求項1記載のアセンブリ。

(5)、該固体支持体に該試薬貯蔵器に結合するために有効なリポンドの放出のためのインジケータを備えて使用するため、前記アセンブリが(1)の該リポンドを放出するときに、このインジケータと反応物質内に結合することがあるアンチリポンド試薬、および(2)の固体支持体上に検出される信号を放するのための該アンチリポンド試薬と反応することがある試薬を、反応

チャネルに連続供給するための試薬貯蔵器を含む。請求項1記載のアセンブリ。

(6)、該長い放射状に配置するチャネルによって形成された反応導管および検出部が含まれて固定化されたプログラムメントでコーティングされた反応表面を含む反応プレート。

該反応プレートに提供され、前記導管の一端の開口と並列である出入口を有するカバープレート。

(1)該分枝体積プログラムメントおよび前記固定化プログラムメントに結合するために有効なプローブと試薬貯蔵器、(2)チューブと該通路、(3)前記分枝体積に、直接または間接的に、結合するために有効な分枝体積プログラムメント、および(4)該分枝プログラムメントに結合するために有効なリポーター標識プログラムメントを含む他の試薬貯蔵器を含む中間移動プレートであって、(5)他の試薬貯蔵器は該反応試薬貯蔵器に連続供給するために設計され、さらに前記移動プレートは、該移動プレートを検出位置まで移動するとき、該カバープレート内の出入口と並列である出入口を有し、該反応導管を通じて溶液を導管するための封入された通路を有し、

(6)他の貯蔵器を該反応導管から分離するカム位置から、第1〜第4の貯蔵器を前記導管と並列させて、それぞれ、該導管に第1〜第4の試薬を連続供給させる第1〜第4の移動位置まで、相対的な回転を許すための該反応プレートとカバープレートとの間に該移動プレートも取り得る装置、および

連続した試薬貯蔵器が該反応導管と並列するまでのこれらの貯蔵器から第1および第2の試薬を放出しないようにするための装置、

から成る、液体試薬において、反応の検出の開口部を有する分枝体積アッセイするための反応アセンブリ。

(7)、(1)の固体支持体を含む、反応支持体と検出して検出結果を

保持するための検出を決定する反応プレート、(8)第1と第2の試薬貯蔵器を含む移動プレート、(9)前記第1と第2の貯蔵器に接続され、該固体支持体に検出できる形でリポンドを結合するために必要な第1と第2の反応試薬、(10)該試薬を前記導管に供給できる試薬供給通路、該第1の貯蔵器を前記導管と並列させる第1の試薬移動位置、該第2の貯蔵器を前記導管と並列させる第2の試薬移動位置への移動のために反応プレート上の移動プレートを駆動する装置、および(11)連続した試薬貯蔵器を前記導管と並列させるまでのこれらの貯蔵器から第1および第2の試薬を放出しないように防止するための装置、

から成る反応アセンブリ、および

前記反応プレートを提供し、前記移動プレートをその多様な位置まで回転するためのデバイス。

から成る、該固体支持体への放出可能なリポンドを放出することによって、分析物リポンドを検出するための装置。

(12)該デバイスがカムとして移動プレートを回転させるために有効であり、前記反応導管は放射状に配置するチャネルを含む、前記固体支持体表面は内側から外側の放射状配置へのうちの移動に対してチャネル内に収容される少なくとも2個の放射状配置を含む、前記移動プレートはこのような配置を収容する配置を含む、その際に該チャネル内の粒子に外側の方を加え、そして前記導管を前記導管と並列させ、および前記反応プレートは前記導管内の粒子を検出できる粒子検出通路を含む、その際に該粒子を含む移動プレートと前記反応プレートに対して回転させる、請求項1記載の装置。

(13)、前記デバイスに前記セルの検出内容物を加熱するためのヒ

ーターを含む、前記ヒーターを用いるとき前記アセンブリはさらに前記導管をシールするためのシール装置を含む、前記シール装置は前記反応プレートに取付けられるカバープレートを含む、前記シール装置は(1)の該プレートの該平面に垂直な方向に移動するよう前記移動プレート内に配置されたシールパッド、および(2)該移動プレートを加熱位置に動かすとき、前記導管に対して該パッドを一方に片寄せさせるための前記カバープレート上の装置を含む。請求項1記載の装置。

(14)、前記固体支持体は前記導管内にヒースを含む、前記デバイスは該ヒースに結合した温度検出器を有する検出装置を含む、前記検出装置は光検出器を含む、そしてチューブは該光検出器を備えて、該ヒースの検出表面部分を取り囲むように正しい位置に置くことができる、請求項1記載の装置。

明 細 書

組込みアッセイ装置に関する装置

1. 装置の概要

本発明は試料試液中の分析物を分析するためのアセンブリ、特に、定められた配列中の試料に結合することができる予め設計した試薬を提供する組込みアセンブリに関するものである。

2. 装置の概要

分析物のアッセイの多くは、分析物を連続して正確またはそれ以上の精度と感度とを有する反応工程の配列を含む。代表的なこのタイプのアッセイでは、連続試薬およびその混合物は次の試薬を添加する、予じめ選択された時期で反応させる。アッセイが固体支持体に結合する分析物を含む場合、支持体に結合した分析物を含有する反応チャンパは試薬供給工程の間に洗浄することができる。

選択を要する、試薬上のセクタリングにおける自動化または半自動化操作のために必要とすることができる、あるいは代りに、固形アッセイ方法によって製造または調製したセクタリングにおいて精度に相当する堅固な組込み装置でこの種の複合的組込みアッセイを行うことが望ましい。

従来、複合的な予じめ設計した試薬を提供する種々の組込み装置が提案された。米国特許第4,364,316号には、分析物と反応するための予じめ包装された試薬を含むことができる複数の反応室は液体試料を分配する使い捨ての分配装置を記憶している、この装置はまたそれ以上の層を介して連続的に各試料を移送することによる連続反応アッセイのために適合させることができる、別の層は別置の予じめ包装された試薬を含む。

ロールを駆くかまたはチャンパ間に試料を流すために必要な力の発生、およびノズルは液体をチャンパからチャンパに移送時に注げる装置化の点によって、この装置は製造場所が比較的高く、また操作の信頼性がない。

3. 装置の概要

本発明は、ひとつの観点では、固体支持体への液体可能な分析物的結合によって分析物リガンドを検出するための組込みアセンブリを含む。このアセンブリは固体支持体を含む層部を有する反応プレート、および別々の第1および第2の貯蔵部を含む第1および第2の試薬を含む移動プレートを含む。試薬が層部に添加される試料添加位置。1の貯蔵部を層部と共に整列させる試薬移動位置、洗浄液を層部に注ぐことができる洗浄位置、および第2の貯蔵部を層部と共に整列させる第2の試薬移動位置に移動するために、移動プレートは反応プレートに取付けられている。移動プレートおよび反応プレートは第1の貯蔵部が層部と共に整列するまで、それらの対応する貯蔵部から試薬が放出しないように設計されている。

1実施例では、試薬は液体層部の形態であり、層部を含む反応部はプレートに形成されたチャネルを含む。このチャネルは移動プレート内の開口部でシールされる。第2しくはチャネルとロールは移動プレート内のチャネルに保持された弾性スリーブによって形成され、移動プレートおよび反応プレートの向い合った面は隣接する。スリーブ領域に隣接して、キャプチャロールを形成し、毛管現象によって貯蔵部から液体が漏れないようにする。また第2例では、移動プレートは移動プレート内の貯蔵部を反応プレート内の壁と連絡する面取りした開口部を含む。

他の一般的な実施例では、少なくとも1層の試薬はプレート状

の試薬を含む。このプレート状の試薬は連続した試薬貯蔵部から層部へ重力によって供給され、その間に試薬貯蔵部は反応層部と整列する。

反応プレート状の反応層部は固形アッセイ支持体を含む第1のチャネルによって形成することができる。この例では、移動プレートはチャネル内の空間領域と配列できる出入口を含むことができ、移動プレートを洗浄液まで移送する、チャネルを液体が通過するための封入された通路を形成する。

ひとつの方面では、移動のターゲットシーケンスを用いて液体を移動するためにこのアセンブリを使用する。ここでは反応中の固形支持体を固定化した複数のフラグメントで標識し、アセンブリは(1)ターゲットシーケンスと固定化フラグメントの両方を区別するために有動性プローブ、および(2)直接または間接的に、プローブに結合するために有動性リポーター分子を反応チャネルに連続的に導入するための試薬貯蔵部を含む。

他の方面では、アセンブリは固体支持体へ免疫学的に結合するために有動性リガンドの検出のためのイムノアッセイにおいて使用される。ここではアセンブリは、(1)リガンドを支持体に結合する、リガンドと免疫学的に結合することができるアンチリガンド試薬、および(2)固体支持体上に検出可能な信号を注ぎようにアンチリガンド試薬と反応することができる試薬を反応チャネルに連続的に導入するための試薬貯蔵部を含む。

他の観点では、本発明は固体支持体への検出可能なリガンド特異的結合によって分析物リガンドを検出するための装置を含む。この装置は上記のタイプの組込みアセンブリ、反応プレートを含み、そして前記移動プレートをその異なる位置に回転するためのデバイスを含む。

他の観点では、本発明は固体支持体への検出可能なリガンド特異的結合によって分析物リガンドを検出するための装置を含む。この装置は上記のタイプの組込みアセンブリ、反応プレートを含み、そして前記移動プレートをその異なる位置に回転するためのデバイスを含む。

1実施例では、このデバイスはユニットとしてアセンブリを構成するために有効であり、反応部は放射線に感応するチャネルを含む。固体支持体表面は内側から外側の放射線位向間からその中で移動するためのチャネル内に運ばれる少なくとも2層の放射線不透過性、そして移動プレートは粒子を受け取ることである受け手であり、その際チャネル内の粒子に外側から加え、チャネルを前送のプロットと共に移動させる。反応プレートは導内の粒子を仕舞ひである粒子を受け取る溝部を含む。その際に放射線粒子を含む反応プレートは反応プレートに対して回転する。

溝部の固体内表面を加熱するために設計されたデバイスの実施例では、アセンブリはさらに加熱するときに溝部をシールするための構造を含む。アセンブリは反応プレートに保持されたカバープレートを含む。シール溝は、(a)プレート面に対して正面の方向に移動するための移動プレート内に運ばれるシールパッド、および、(b)移動プレートが加熱位置まで移動するときに、溝部を封鎖してパッドを一方は所望するするためのカバープレート内の表面を含む。

このデバイスの1実施例ではまた、固体支持体は溝部内にビームを含む。このデバイスは放射線をもつ検出器、および光センサから検びてビームの照射部位を感知できるように配置であるチューブを含む。

本発明のこれらおよび他の目的および特徴は、以下の本発明の詳細な説明を添付する図面と共に読むときに一覽全に明らかになるだろう。

図面の簡潔な説明

図1は本発明に従って構成されたラッセイ装置におけるコンポナントの分解図透視図であり、

けられる工程の横断図であり、

図13A-14Bは本発明の装置によって自動化された方法で得ることができるN/A分析装置ラッセイにおける連続した加熱融合反応の横断図である。

参照の符号の説明

1. ラッセイ装置のアセンブリおよび装置

図1は、分解透視図において、本発明に従って構成されたラッセイ装置10を示す図である。装置は、また本発明の一面を形成し、図2-12に関連して以下に説明するアセンブリ20を含む。簡単に言えば、アセンブリは、共にそれらの外縁でそれぞれ結合している反応プレート24およびカバープレート25、および加熱部10の周りは2枚の外側のプレートに関連して回転することが可能な移動プレート26から形成される。このために、移動プレートは、移動プレートを回転するための、静止位置に支持された反応プレートおよびカバープレートと結合である加熱開口部34を含むハブ27を含む(図2)。

装置内のコントロールデバイス36はラッセイの操作中にアセンブリを支持する溝部シート40を固定する溝部35を含む。この溝部には、図に示すように、シートの周りの分割保持に設置されたピン42のようになり本のピンが取り付けられている。これらのピンは、以下に説明するアセンブリの溝部の対峙する穴に結合し、カバーおよび反応のプレートをシートとの開口部に対して固定する。

加熱部10において、駆動シャフト44によって与えられる駆動モーター45に支持されて受け付けられ、このモーターは単相モーターのワジング45に含まれる。駆動シャフトの溝部に取付けられたラッセイのフレーム46は、図において個別であるように、支持フレームに与えられているアセンブリの反応表面と共に、ハブ27の開口

部1は本発明に従って構成されたラッセイ装置の反応表面の断面図であり、

図3は図2のアセンブリにおけるカバープレートの平面図であり、

図4は、図2のアセンブリにおける移動プレートの平面図であり、

図5は、図2のアセンブリにおける反応プレートの平面図であり、

図6Aおよび6Bは図2のアセンブリにおける相対的なプレート位置での断面図であり、アセンブリ内の移動ディスタンスにおける加熱位置は反応プレート内の反応チャネルから分離され(6A)、そして加熱位置はチャネルに対して移動位置にある(6B)；

図7Aおよび7Bは図6Aの線A-Aおよび図6Bの線B-Bにそれぞれ沿って見られる断面図の拡大断面図であり、

図8はアセンブリ操作時の加熱工程の間でのアセンブリ内のシールされた溝部の拡大断面図であり、

図9Aおよび9BはそれぞれAおよびBに拡大断面図であるが、加熱部10の内部は加熱した粒子の形態であるアセンブリの実施例を示す；

図10はアセンブリ溝部を閉鎖するための位置におけるアセンブリを示すアセンブリの拡大断面図であり、

図11は溝部内のビームから光学的信号を検出するための検出構造を示すアセンブリの溝部領域の拡大断面図であり、

図12A-12Cは反応プレート24の反応チャネルから移動プレート内に形成された溝部12A-12C、およびこの溝部を反応プレート内の別の溝部に12D、図13の移動させる工程を示し、

図13は例示的な分析装置ラッセイを完成する際に本装置によって

部に結合するように設計された突出部34を運搬し、従って、ハブの開口部34に収容された突出部34と共に、アセンブリをシート40に等速に固定化すると、アセンブリ内の移動移動プレートは駆動モーターによってカバーおよび反応のプレートに対して選択された位置に回転することができる。

コントロールデバイス10内のモーターは、前記のように、アセンブリをシート40に固定する適切な移動位置から、アセンブリをシートから取り外し駆動モーター44上で回転するように自由にすることを可能にする。加熱位置の移動の内側(移動プレート)の移動のため、アセンブリを駆動モーターによってユニットとして回転することができ、このようにしてワリ-回転位置のアセンブリおよびモーターは、加熱されるべき目的として、アセンブリにおいて加熱部10の外側に位置を導く力として働くことができる。またアセンブリは、反応部10を結合するため、ワリ-回転位置においてモーター上のアセンブリを移動することによって、速く動かすことができる。

デバイス内の加熱ユニット50は、図10に関連して以下に述べるように、アセンブリによって加熱位置を導くように設計される。簡単に述べると、アセンブリを溝部35に置く場合、アセンブリのカバープレート25に形成された開口部52a、52bはアセンブリ内の反応溝部の一部を含む溝部とされた溝部の溝部を形成する。上記のように開口部52に受け付けられるユニット50は、加熱した液体位置にフレームを動かすとき、それぞれ、開口部52a、52bに挿入する。一方のチャネル52a、52bを保持する位置に位置できるフレーム54を含む。加熱条件において、液体溝部は加圧してチューブ56を流して供給され、チューブ56を流して除去される。

また、図1において、加熱された反応温度までアセンブリ内の溝

第の反応腔部を加熱するための使用される隔壁内の加熱ユニット62が示される。このユニットは、図に示されるように、基部に設けられたアセンブリと共に、アセンブリ内の反応腔部の直下にユニット内の加熱導管が配置するように、基部38の下側部に取り付けられる。

図1には示していないが、隔壁36はまたアセンブリ内の反応腔部を抽出するため加熱導管ユニットを含むこともできる。ひとつの好ましいユニットは図11に関連して以下に説明されるだろう。

本発明のアセロイアセンブリは特に図1〜4に関連して説明される。アセンブリ内の反応プレート24（図1および図2）は縦長の放射状に伸びるチャネル、またはアセンブリ内の反応チャンパとして働く導管98を有する。すなわち、このチャンパは反応物および生成物のために必要な反応物と生成物の表面が互に接する反応支持体と液体接触する場所である。図に示した例では、導管は金属、例えばアルミニウムや銅の挿入部168内に形成され、この挿入部はガス状のプレート部材168の下側面に取り付けられる。挿入部上で、プレート部材168の上側表面によって限定された径178の下で挿入部が行われる。チャネルの入口は導管領域168の放射状に開通する開口部172aおよび172b、および中央開口部172cが形成される。開口部172aと172bは、移動させるべき流体のために、プレート24内の開口部172cおよび172dと一直線に並んでいる。

プレート内の導管の構造の詳細は図2に見られ、プレート24内の導管領域の横断面図、プレート26、98の断面図の構造が示される。挿入部に形成されたチャネルまたは導管は傾斜を有する傾斜面に沿って実質的に円形の断面を有し、図10に示されるように、此類のチャネル20を形成するチャネルの断面の放

射線形領域と一致する。図5の開口部172aおよび172bより下の領域に示されている。挿入部はプレート部材168の下側領域に形成された溝174に収容され、178で示されるように、フランジによってプレート部材に取り付けられている。他178の各開口部、例えば図1に示される開口部172cは、導管と連絡しており、短い距離だけ開口部178および開口部178を介して開口部178を介する。以下に述べるように、液体をプレート24の導管部から開口部に、および開口部を通して移動プレートのチャネルに送り出す。

粒子84、86、88のような粒子またはそれ以上の固相ドーズまたは粒子がチャネルに運ばれ、アセロイ反応において固相反応物を形成する。図に示した例では、以下のセクションCで述べる実施例では、3種の粒子は（1）ポリプロピレン、（2）ポリプロピレン、および（3）分析物を含むものである。チャネルおよび粒子は第10および12図において説明されている。また本発明は単一固相反応物のみを有する反応式を適用するものである。

プレート24のチャネルの断面図を考えたときに、これらに反応する目的のため、粒子に対して気相の空気をマニピュレーションする。この例に照準して、これらまた以下に述べるように、化学反応後にチャネル88から3種の粒子を移動させる。導管の開口部は、174、176とある。3種の導管は図1に示したリポーター分子の存在を検出するための検出領域を含むことができる。

反応プレートは、2つのプレートの外側の導管領域を連絡するリベット78（図2）のような留金によってカバープレートに固定される。留金はプレート内に形成された穴78のような穴によ

て支持されている。また反応プレートには、アセンブリをコントロール装置に取り付けるとき反応物を収容する中央開口部62を形成する。

アセンブリのカバープレート28は図3の平面図に示されている。このプレートは反応プレートと同じ直線をもつ円形ディスクである。プレートの外側の反応領域88には、上部プレートおよび反応プレートと固定するための、孔84のような孔を形成する（図3の点線88はアセンブリ内の移動プレート28の長さを示す）。またカバープレートには、（1）図1に示すように、ハブ38のカバー部を収容する中央開口部62；（2）それぞれ、反応プレートにおいて、導管174、176と共に整列する一連の開口部88、88、88、88；（3）それぞれ、チャネルを導管と液体接触を確保するため、開口部172a、172bと共に整列する上側開口部88、88；および（4）出入口172cと整列する肉入口88、および88の間の開口部88がある。

図3および図4を参照すると、移動プレート28は、ハブ32をプレートと共に回転するように固定した中央開口部88を有するプレート部材168を含む。このプレートは、プレートを介して固定する放射状チャネルの空を有する他の反応領域24、34、36および38を含む。特に図1を参照すると、比として反応領域24はプレート部材168を介して固定するスリーブ168が形成され、プレート部材の上側と下側の両側でプレート部材の平面を越えて延びる。実質的にアセンブリでは、複数の反応物を形成するスリーブは軸方向に延びる。図1に示したように、カバープレートと反応プレートの間に合った図に於いて液体を運ぶチャネルを形成する。スリーブは完全に閉じた状態では閉じた状態から形成される。スリーブのシール領域は、ここではチャネル

88と連絡する移動プレート内の開口部のひとつと反応物が直接に接触して反応腔内の液体状態が形成されないようにするための手段である。

プレート28を形成するプレート部材とアセンブリ内のカバープレートと反応プレートとの間に合った断面図の間の空間は、2つのプレートの間の空間に空気を介して各反応物に含められた液体が流入しないように動く。図3、図4、図5のようないくつかのプレート断面図の間の空間は、2つの断面図で毛管作用を介しては大きく、図に示した例では、プレート部材168の厚さと比較して比較的長い距離を形成するスリーブを有する。また、各スリーブの直ぐ近くの移動プレート部材の領域は各スリーブの両側に毛管作用領域を形成するように設計されている。

前述のように、プレート28の各反応領域は、図1、図2、図3および図4に関連して以下に述べる反応チャンパに液体状態を供給するため、チャネル88と連絡している反応プレート内の開口部172a、172bのひとつと整列させることができる。特に、開口部88、88および88のような扁平の反応領域、放射状に開通する、反応物をカバープレートおよび反応プレートに関して移動させるので、2つの反応腔内の液体状態が互に汚染されないようにする。

また、移動プレート内に、それぞれ、反応プレート内の開口部172a〜172c、および同時にカバープレート内の開口部88〜88と整列する開口部168a〜168cを形成する。整列する3種の開口部のいずれかを、ここでは無条件的にアセンブリの反応領域に反応物を導入するための手段と呼ぶ。

移動プレート内に形成された他の開口部は3種のウェンデル84、86、88を含む。これらは、2種のウェンデルを形成する。開口部、それぞれ、導管174、176とある。それぞれ、

プレートにおいて開口部172aと貯蔵部18を区別させるように図1に示すように動かすことで、貯蔵部内の液体試薬をチャネルに移す。貯蔵部のツールは最初に開口部172aの縁に置かれるので、貯蔵部内の液体ツールが破れて、液体を貯蔵部に押し戻すことができる。上述したように、移動プレートのキャセトリッジの特殊な移動プレートと反応プレートとの間の領域は圧着装置によって貯蔵部から液体が流出しないようにすることができ、漏れを防止した開口部172は、開口部の一層狭い上部の区域によって与えられる圧着装置と、開口部の下部の漏れを防止した区域によって与えられる連続な液体の破れとの組合せによって、液体が貯蔵部から漏れに陥るようになる。

上述のように、本発明の他の実施例において、貯蔵部は、図3に示したように、電力によって反応チャネルに沈降する液体したプレート状の試薬を含むことができる。試薬と液体試薬を混合するため、移動プレートを回転させてチャネルをシールする位置に動かすことができ、フロー移動装置に回転モーターを押し上げることによって、コントロール装置内のシートからアセンブリを保持させ、このアセンブリをモーターによってモットとして動かすことができる。

最後に（または別体）試薬を反応部に導いた後、移動プレートを回転させてポート182を反応部の上に配置する。図4に示すように、この位置でのポートはカバプレートと反応プレートの間に保持され、反応部の周りに緊密なシールを形成する。次に装置内の液体試薬を移動させて連続した反応時間で反応部を加熱する。加熱サイクルの間に、反応混合物からの加熱液体は開口部172a-172e上のツールによって漏れから逃げることもできない。

上記で、次に他のアセンブリ開口部に引き下げて次のプロセスを求めると。

代わりに、図13a-13cに示すように次に述べる操作を行い、分離した試薬試料をチャンパにビーズを分配することができる。簡単に、移動プレートを図12bに示した位置まで回転させて、反応チャネルと図11の分配部分を区別させる。その上での位置まで動かした移動モーターを用いて、すぐにアセンブリを、図13aに示したように、反応チャネル内の粒子を移動して外側に溝内に押し込むために十分な速度で回転させる。図13bに示したように、最終には溝の両端の部分に粒子は押し込まれる。粒子はこの位置で溝72（図5）に捕獲され、それらが遠心分離の速度に反応チャネルに落ちないようにする。

反応プレート上の各溝部に粒子を分配するため、モーターを別の適切な位置まで動かして、アセンブリをコントロール装置に戻り配置し、移動したプレートを右回りの方向、すなわち溝の底部に対して粒子を押し込む傾向がある方向に（粒子の位置は図12bに示した）回転させる。溝は反応プレートにおいて各溝部上を移動するので、各溝の全ての溝部に粒子が移動し終るまで、溝内の最も形成した粒子が溝部の底に落ちる。

各溝部内を結合した分析物の分離は様々な既知の方法によって実施することができる。例示的には、特に粒子に結合する分析物は、それ自身、蛍光を有する標識プローブ（リポーター分子）または検出装置または分光検出器によって検出される。または、検出装置である検出モーター部分を含む。上述したように、溝部は所望の検出装置を保持するリポーター部分で覆われる検出溝部を含むことができる。

本発明の粒子移動の特徴のひとつの利点は複数の反応粒子を単

一移動プレートとすぐに回転させて貯蔵部の内容物をチャネルに移し、反応混合物を再び混合して、所望の反応時間で観察される速度で反応させる。図4を参照して述べられるように、右回りの方向での移動プレートの連続した動きは、それぞれカバプレート内の開口部182a、182bと、それぞれ反応プレート内の開口部172a、172bと、182c、182dで示される第1セットの液体試薬入口とを個別にさせる。この操作が行われると、洗浄ユニットは引き下げられて、個別した各入口に洗浄液（例えば水）を押し込み、図19に示したように洗浄液は反応チャネルを通して循環し、最初の試料と反応チャネルからの第1の試薬の試薬を洗浄する。

上記工程を繰り返して（1）反応チャネル内に洗浄された図10の粒子と第3の試薬を混合し、混合しインキュベートする、（2）洗浄によって第3の試薬を除去する、（3）洗浄された粒子と第4の試薬を混合し、混合しインキュベートする、そして（4）洗浄によって第4の試薬を除去する。これらの工程は図18に示され、各工程の次の洗浄工程は（1）、（2）および（3）で示される。

反応完了後、図10を、すなわち図10に示すような分析物試料を、反応部内からビーズを用いて取り除くことができる。反応部内の他のビーズからの化学的試料を取り除く人工物を減少させるため、デバイス内（または分離した化学的試料取りデバイス内）の化学的試料は好ましくは図11における開口部182に別して押し込まれるべきであり、各ビーズから試料を取り除くことができる。抽出は化学シンタ182および、上述したような試料部分をリバーするような大きな移動モーター200を含む。この大きな移動モーターはアセンブリ内の開口部（カバプレート、移動プレート、および反応プレート内の個別した開口部によって形成される）を介して反応部に引き込まれる。各ビーズを取り除いた後、モーターを

一のチャンパで同一条件下に反応させ、抽出のために準備させることができる。抽出のために粒子を分離すると、化学ルミネッセンス、蛍光、または酵素活性によって正確な検出を行うことができ、粒子を強磁性ノズル又は同じ反応チャンパ内に置くことは、このように正確には不可能である。しかしながら、本発明はまた（例えば）それ以上のビーズ、または反応部内の他の試料支持体表面を用いる図10の反応を行うため、および、図11に示すように、反応部の試料表面を除去するために有利である。

図12のセクションCは図10の反応方法による分析物の分離のための例示的なアッセイ方法を記載する。この方法はアセンブリおよび装置の様々な利点を示す。（1）連続的な試料アッセイを簡単な試料アセンブリで行う能力、（2）移動プレートから反応プレートに正確に試料を移すこと、（3）反応工程と検出サイクルを調整させる能力、（4）液体をロスしないで加熱しインキュベーション工程を行う能力、および（5）単一のチャンパ内で複数の図10の反応を行い、次いで分析物を検出するための図10の試料支持体を分離する能力を含む。DNA分析物アッセイは本発明のアセンブリの速度で行うことができる1つのタイプのアッセイを示したが、本発明は、反応部における分析物の検出または定量のために、固体または液体試薬を反応領域に、好ましくは連続的に、移動する試料支持体のアッセイ方法に容易に適合することは理解されるだろう。

最後に、本発明は反応部内の試料支持体表面が等リポンドと結合するか、または試料試薬のひびくとして供給される二価の中間体分子を介して特にリポンドに結合できる分子を含む。好適なフォーマットでは、リポンドは炭素であり、固相支持体上に置かれたリポンド結合分子はリポンド結合の試薬である。リポンドを

有試料を固相支持体に固定し、結合しなかった試料物質を除去するための洗浄工程の後に、第1のリポーター試薬を検出に添加する。この試薬は、固相支持体に結合したものと共に、リポンドに特異的に結合するリポーター-標的分子を含む。結合しなかった物質を除去するための第2の洗浄に続いて、結合したリポーターの検出のための第2の試薬を反応領域に添加する。好ましくはリポーターは、アルカリホスファターゼまたはペルオキシダーゼのような酵素であり、第2の試薬は反応領域内に検出できる発光反応を生ずるような酵素リポーター反応である物質を含む。

前述の両DNAプローブフォーマット、およびリポンドフォーマットの両方において、固相支持体に分析物特異的に結合し、結合分析物の検出可能な信号を生じさせるためセンサー内に運ばれる多数の試薬位、まためて、ここでは検出形態で固相支持体に分析物を結合するために必要な反応試薬と称される。

本発明のアセンブリは、検出において分析物検出信号を生ずるために、アセンブリが液体反応チャンセルに試薬を添加する簡単なフォーマットを有している場合に特に、手動操作できることは高く評価されるだろう。ここでムーダーはその試薬移動位置でアセンブリを容易に操作し、手動移動によって任意に必要な割合を行うことができる。

C. 図14Aの目的の図解アセンブリ

図14A-14Dは本発明のアセンブリと関連を有して行われる環境でDNA分析物アセンブリにおける反応工程のシーケンスを概略図で示したものである。

まずアセンブリに含まれる固相粒子と試薬を考慮すると、最初の固相粒子は陽性および陰性コントロール（粒子αおよびβ）と

しておよび特異的分析物ターゲット（粒子γ）のために設定で、陽性コントロール粒子はコーディングされており、陽性コントロール粒子と分析物粒子は、それぞれ、陽性コントロールおよび分析物特異的標的プローブに相補的である一本鎖フラグメントをコーディングされている。1個のプローブの性質に依存して記載する、陽性コントロールおよび分析物粒子は、検出のステップリング方法に従って、選択されたDNAフラグメントを有するポリマーまたはガラスビーズを誘導することによって選択される。分析物標的粒子は図14A-14Dの150で示され、分析物プローブに相補的であるこの粒子をコーディングするDNAフラグメントは、152のような図解で示される。

第1の液体試薬は、アセンブリ内の反応領域に含まれ、K₂OHのような変性剤、陽性コントロールおよび分析物特異的標的プローブ、陽性コントロールのDNA、および陽性コントロールおよび特異的分析物アプライアプライアプローブを含む。陽性コントロールのDNAは、そのフラグメントに特異的、すなわち、分析物DNAとは異なる短い特定のシーケンス領域の数をもち二本鎖DNAフラグメントである。アプライアプライアプローブは、陽性コントロールのDNAおよび分析物標的において標的の異なるシーケンスのひとりに相補的である第1の鎖。および第2の試薬に含まれる発光リポーターは分析物シーケンスに相補的である第2の共通の領域を有する一連のプローブを含む。図14Aの154で示されたアプライアプライアプローブにおいて、分析物標的におけるシーケンスに相補的である第1の鎖は156にて方形パターンによって示され、第2の共通の領域は、コイル状の鎖158によって示され、分析物DNA上でDNA内のシーケンスに相補的である。

陽性コントロール標的プローブは、陽性コントロール粒子上に

運ばれたDNAフラグメントにおけるシーケンスに相補的である共通の第1のシーケンス、および陽性コントロールのDNAにおいて異なる特定のシーケンス領域に相補的である異なる第2のシーケンスを有する一連のプローブである。分析物標的プローブは同様に分析物粒子上に運ばれるDNAフラグメントにおけるシーケンスに相補的である共通の第1のシーケンス、および分析物標的における異なる特定のシーケンス領域に共通である異なる第2のシーケンスを有する一連のプローブを含む。1個のこのような分析物標的プローブは図14Aにおいて152で示され、152にて矩形パターンで示される第1の領域は、分析物標的におけるシーケンスに相補的であり、点線154で示される第2の共通の領域は、分析物粒子上に運ばれるDNAにおけるシーケンスに相補的である。

反応領域に含まれる第2の液体試薬は、例えば塩基変性試薬を含むことによって、DNAアニーリングを行うことができるフォーマット形式または検出期を含む。

図14Bに示される第3の液体試薬は、図14A-14Dにおいて158で示されると分析物DNA分子を含む。この分子は、結合プローブの領域158に相補的であるコイル状領域158によって示されるシーケンス、および標的プローブ領域に相補的である例えば点線156で示されたような分析物DNAの1部を含む。この実施例では、分析物DNAは分析物および陽性コントロール領域、即ち、アプライアプライアプローブに運ばれ結合するために適合させる。また、分析物DNAは分析物および陽性コントロール領域におけるシーケンスに運ばれハイブリッド形成するまでに選択することである。

図14Cに示される第4の液体試薬は、図14A-14Dにおいて

152で示される標的プローブを含む。これは分析物DNA分子においてシーケンス158に相補的なストレインドシーケンスをもつDNAフラグメント部分154、および信号検出のために使用されるリポーター部分156を含む。

本アッセイのアセンブリにおけるリポーター部分は好ましくは酵素。例えばアルカリホスファターゼであり、濃縮な検出溶液中に化学ルミネッセンス信号を生ずることができる。

アセンブリの化学的検出の説明を完全にするには、アセンブリ内の溶液を検出できる信号を生ずるようリポーター部分と反応する検出溶液で部分的に満たす。例えばピロセチンを含む溶液はアルカリホスファターゼリポーター部分と反応し、光電子増倍管を促進液に用いて検出および定量化することができる化学ルミネッセンス信号を生成する。

初めにアセンブリを試料添加のために設置しDNA分析物150を含む試料をアセンブリの反応チャンセルに添加する。上述のように、分析物はターゲットにおいて分析物標的プローブの領域に相補的である特定のシーケンス、例えばシーケンス152、およびターゲットにおいて結合プローブに相補的であるまたはそれ以上のシーケンス、例えばシーケンス154を含む。

試料添加後、アセンブリを操作して第1の試薬を添加して混合し、次に10分間80℃で定温放置して分析物を変性させる。アニーリング標的領域を溶解し、混合し、さらに10分間定温放置すると、次のプローブ結合結合反応が起こる：（1）陽性コントロール標的プローブは陽性コントロール粒子および陽性コントロールDNAとハイブリッド形成して陽性コントロール粒子にこのDNAを結合し；（2）アプライアプライアプローブは陽性コントロールDNAとハイブリッド形成し；（3）分析物標的プローブは分析物

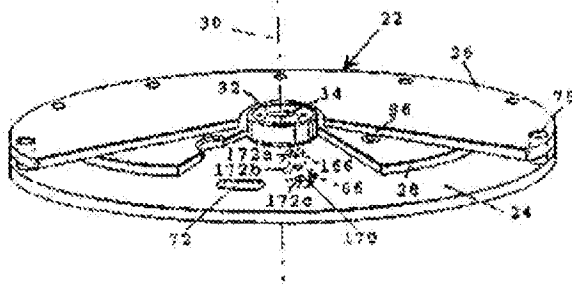


Fig. 2

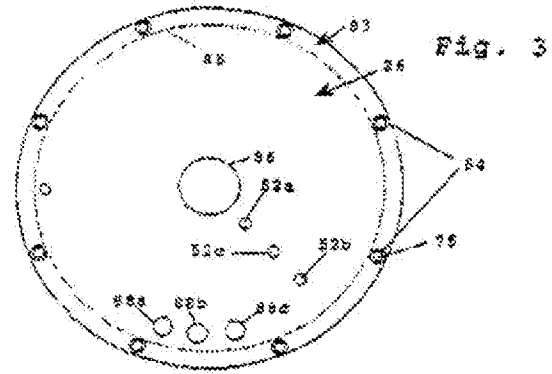


Fig. 3

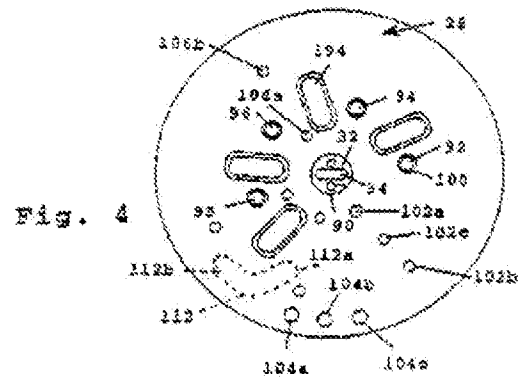


Fig. 4

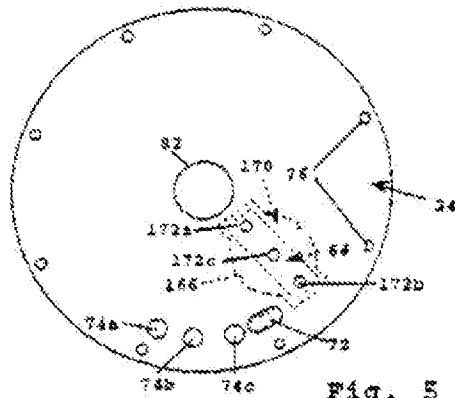
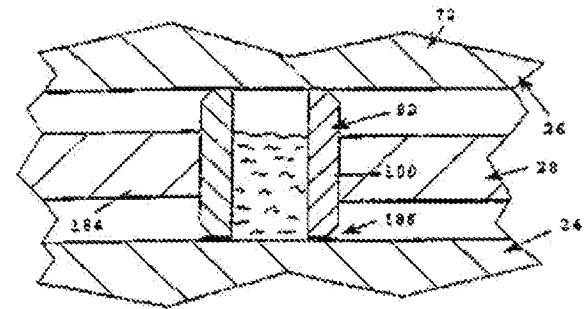


Fig. 5



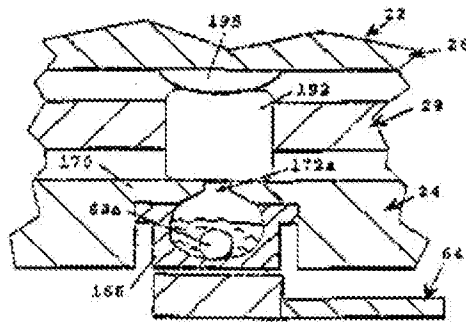


Fig. 8

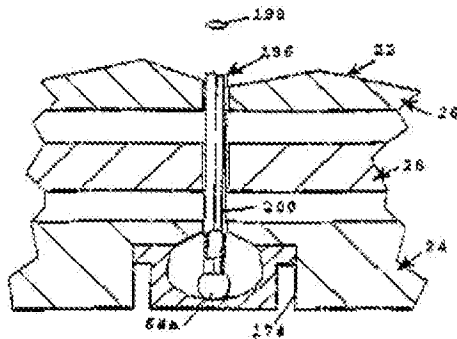


Fig. 11

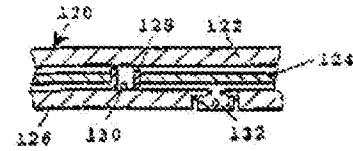


Fig. 9A

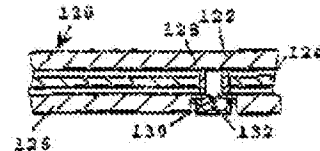


Fig. 9B

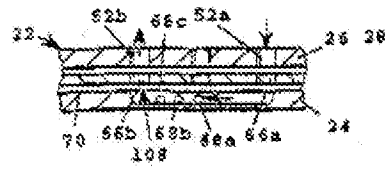


Fig. 10

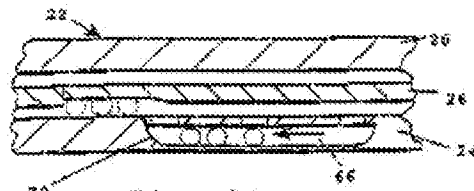


Fig. 12A

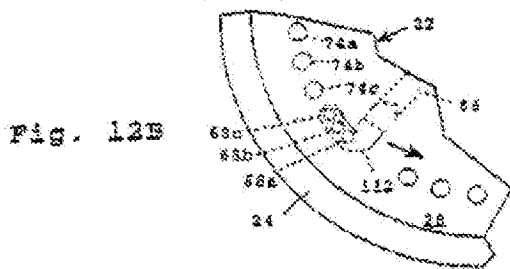


Fig. 12B

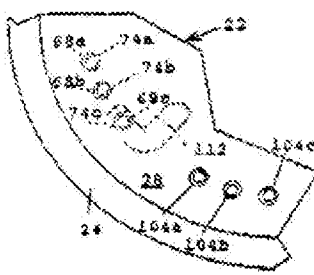


Fig. 12C

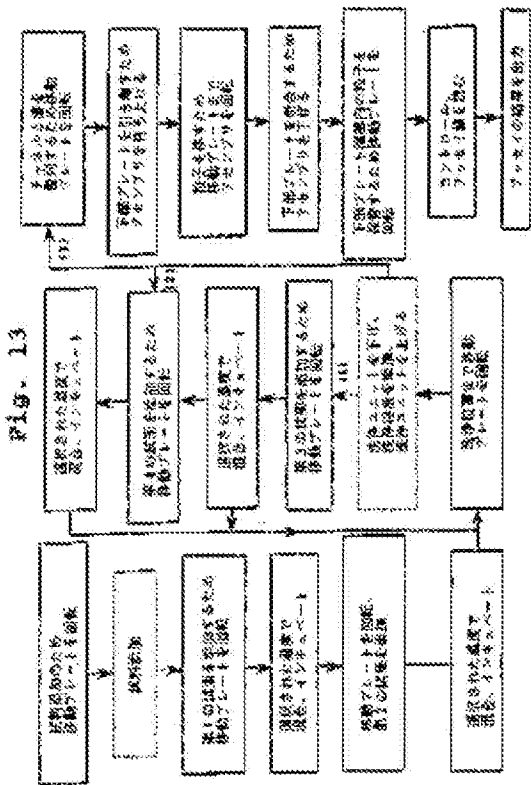


Fig. 13

第1頁の続き

⑤発 明 者 レイサス、レブ、ジェイ
⑥発 明 者 ワーナー、ブリアン、デイ
⑦発 明 者 ジャダル、ロバート、アール
⑧発 明 者 ウルデア、ミカエル、エス

アメリカ合衆国 カリフォルニア州 94306 パロ アルト、フエ
ルン アベニュー 256
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 94553 マーティネツ、アル
ハンブラ アベニュー 1034
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 94131 サン フランシス
コ、チャーチ ストリート 1616
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 94507 アラモ、ブンス メ
ドウ ロード 100